Aus dem Institut für Tierpathologie der Universität München (Vorstand: Professor Dr. *O. Seifried*) und dem Tierhygienischen Institut der Universität München (Vorstand: Professor Dr. *W. Ernst*)

Die Herzextraktagglutination

(Eine neue Methode der postmortalen Feststellung der Pullorumkrankheit)

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Jakob Simon

Tierarzt aus Nattenheim

München 1938

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz A.G., Würzburg

Aus dem Institut für Tierpathologie der Universität München (Vorstand: Professor Dr. *O. Seifried*) und dem Tierhygienischen Institut der Universität München (Vorstand: Professor Dr. *W. Ernst*)

Die Herzextraktagglutination

(Eine neue Methode der postmortalen Feststellung der Pullorumkrankheit)

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Jakob Simon

Tierarzt aus Nattenheim

München 1938

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz A.G., Würzburg

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. *Seifried*

Sonderdruck aus
„Archiv für wissenschaftliche und praktische Tierheilkunde", 74. Band, 4. Heft
Verlag von Julius Springer, Berlin

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548311_0023

Es liegt in der Art der chronisch verlaufenden und verborgenen Infektion bei der Pullorumseuche der erwachsenen Hühner, daß die Diagnose der Krankheit auf Grund der Erscheinungen während des Lebens fast nie gestellt werden kann. Nur selten sind überhaupt Krankheitssymptome vorhanden, die aber nicht als kennzeichnend für diese Krankheit gelten können. Zwar legt das pathologisch-anatomische Bild bei der Sektion oft die Vermutung einer Pulloruminfektion nahe, doch ist auch hier das Hauptsymptom, die Eierstocksentartung, auf sehr viele andere Ursachen zurückführbar. Leber-, Milz- und Herzveränderungen fehlen häufig und so kann oft nur eine Wahrscheinlichkeitsdiagnose gestellt werden. Selbst die bakteriologische Untersuchung der verschiedenen Organe erfaßt nicht alle Fälle einer Infektion mit B. pullorum.

Darum sind gerade bei dieser Krankheit, die förmlich von Generation zu Generation durch das Ei übertragen wird, und in der Nachzucht riesige Verluste bedingt, die Agglutinationsverfahren als Nachweis spezifischer Antikörper von überragender Bedeutung geworden. Sie ermöglichen erst die Erfassung aller Krankheitsträger und ihre Ausschließung von der Zucht. Seit 1927 *(Beller, Wagener*[16]*)* werden in Deutschland solche Untersuchungen durchgeführt, und sie haben sich längst die Praxis erobert. Heute ist es der Reichsgeflügelgesundheitsdienst, der sie im großen und systematisch durchführt. Ihm unterstehen sämtliche Herdbuch- und Vermehrungszuchten, die einer regelmäßigen Kontrolle durch Blutuntersuchungen unterworfen sind. Auf diesen Kontrollen fußen zum Teil die einschneidenden Sanierungsmaßnahmen gegen verseuchte Betriebe. So können z. B. über Betriebe mit 40% positiv auf B. pullorum reagierenden Hühnern Verkaufssperren für Eier und Eintagsküken verhängt werden.

Schon die Zahl der bisher entwickelten Agglutinationsverfahren spricht für das Interesse, das Wissenschaft und Praxis an dieser Art der Krankheitsfeststellung genommen haben. Ihr Wert insgesamt steht fest, wenn auch noch einzelne Methoden dem Für und Wider der wissenschaftlichen Kritik unterworfen sind.

Blutuntersuchung.

Hier sind es insbesondere vier Methoden mit verschiedenen Abänderungen, die im Gebrauch sind. Die älteste und wohl auch heute noch das Standardverfahren ist

1. die Serumlangsamagglutination.

Sie wird auch Reagensglasmethode genannt und ist das Verfahren, das für die Blutuntersuchungen im Rahmen des Reichsgeflügelgesundheitsdienstes vorgeschrieben ist.

Das Blut wird in den Beständen entnommen und in geeigneten Röhrchen dem zuständigen Untersuchungsinstitut zugesandt. Durch kurzes Stehenlassen bei 37° C wird besonders gutes Absetzen des Serums erzielt. 0,01 ccm Serum und 0,5 ccm Testflüssigkeit — entsprechend einer Verdünnung von 1:50 — werden in ein A-Röhrchen* gegeben und kräftig durchgeschüttelt. Die zu verwendende Bakterienabschwemmung ist in ihrer Herstellung genau festgelegt. Sie muß fünf verschiedene, gut agglutinierende Pullorumstämme enthalten, die mit physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von 1‰ Formalin abgeschwemmt, besonders filtriert und zentrifugiert wurden. Die Gebrauchsdichte soll dem Trübungsgrad einer Bariumsulfataufschwemmung entsprechen, die mit 97 ccm 0,5%iger Schwefelsäure und 3 ccm Bariumchloridlösung hergestellt ist. Auch Abschwemmungen mit 4%iger *(Mießner*[11], *Weber*[17]*)* und 12%iger *(Katona*[6]*)* Kochsalzlösung wurden früher neben Carbolkochsalzlösungen *(Bindrich*[2]*)* benützt.

Nach Vorschrift wird das Serum-Testgemisch über Nacht in den Brutschrank gestellt und das Ergebnis am anderen Morgen abgelesen. Dem etwa entsprechend empfiehlt *Mießner*[11] 12—18 Stunden Brutschrankaufenthalt, *Lubbehusen*[10] 24 Stunden, *Weber*[17] unmittelbar nach dem Ansetzen 10 Min. Zentrifugieren bei 1000 Touren-Minuten und Ablesung nach 4 Stunden. Die Versuche *Bindrichs*[2] zeigen, daß bei 20 Stunden Brutschrankaufenthalt oder nur 2 und 18 Stunden Stehen bei Zimmertemperatur gleiche Ergebnisse erzielt werden, während nach 2 Stunden allein noch keine Agglutination eingetreten war. *Beller*[14] empfiehlt besonders für ältere Seren zur Vermeidung von Pseudoausfällungen Ablesung nach 5 Stunden Brutschrankaufenthalt, wobei er aber dann Agglutinationen in der Verdünnung 1:25 schon als positiv gelten läßt.

Auch die Art der Ablesung ist verschieden. Eine positive Ausfällung kann daran erkannt werden, daß die überstehende Flüssigkeit im Vergleich zur negativen Probe klar ist. Diese sog. Klarheitsmethode *(Weber*[17]*)* ist aber weitgehend dem subjektiven Empfinden des einzelnen Beschauers ausgesetzt, so daß sie allein nicht genügen kann. Der wichtigste Anhaltspunkt für die Ablesung ist der Nachweis der Flockenbildung durch Bakterienverklumpung beim Vorhandensein spezifischer Antistoffe. Er kann mit unbewaffnetem Auge geschehen oder mit Hilfe des Agglutinoskopes. Es läßt zwar feinere Flockungen erkennen, aber deshalb auch mehr Scheinagglutinationen *(Weber*[17]*)*. Eine gute Ablesung mit dem bloßen Auge ist auch die Punktmethode. Sie beruht auf der Erscheinung, daß nichtagglutinierte Bakterien sich nach einiger Zeit an der tiefsten Stelle des Glases sammeln als mehr oder minder großer Punkt, während agglutinierte einen schleierförmigen Bodensatz an der Kuppe des Röhrchens bilden, der meist gezackte Ränder aufweist. Bei fraglichen Reaktionen ist in der Mitte des Schleiers noch eine Punktbildung zu erkennen.

2. Die Serumschnellagglutination.

Die Serumgewinnung ist die gleiche wie oben angegeben. Dagegen wird die Testverdünnung anders gewählt. Man nimmt eine möglichst dichte Abschwemmung

* Agglutinationsröhrchen.

von milchiger Trübung, etwa 5mal so dicht wie die bei der Serumlangsamagglutination verwendete *(Mießner*[11]*)* oder sogar 40mal so dicht *(Grieder*[5]*)*. Auf einem Objektträger oder eigens dafür geschaffenen Vorrichtungen, z. B. einer gefelderten Glasplatte, Beleuchtung von unten und schwarzem Hintergrund, bringt man einen Tropfen Serum und einen Tropfen Testflüssigkeit oder dem etwa gleich: 0,02 ccm Serum und 0,02 ccm Test *(Bindrich*[2]*)*. Das Ganze wird mit einem Glasstäbchen durchgemischt oder gut durchgeschüttelt, wonach die Reaktion dann schnell eintritt. Für eine spezifische Agglutination verlangt *Mießner*, daß sie in einer halben Minute eintritt, *Künnemann*[8] in 1 Min. Bei positivem Ausfall ist eine deutliche Flockenbildung und Aufklärung der Flüssigkeit zu erkennen, die im negativen Fall gleichmäßig trüb bleibt.

Diese Methode bietet gegenüber der Serumlangsamagglutination erhebliche Zeit- und Arbeitsersparnis.

3. Frischblutagglutination.

Auch hier handelt es sich um ein Schnellagglutinationsverfahren, das in Deutschland zuerst von *Mießner*[11] und *Wagener*[16] erprobt wurde.

Man entnimmt einen Tropfen Blut am Kamm mit einer Nadel oder durch Abschneiden einer Kammspitze und setzt ihm auf einem Objektträger oder der obengenannten gefelderten Glasplatte einen Tropfen unverdünnter Testflüssigkeit zu und verrührt das Ganze gut. *Wagener*[16] verstreicht vorher den Bluttropfen auf dem Objektträger. Positive Proben zeigen wiederum Ausflockung und Klarerwerden der Flüssigkeit, negative behalten die Trübung unverändert bei. Durch Gerinnung und Austrocknung werden bei Temperaturen über 20° C leicht Flokkungen vorgetäuscht *(Mießner*[11]*, Rievel*[13]*)*. Die Zeit bis zum Eintreten der Reaktion gibt *Mießner* mit 30—60 Sek. an, *Lubbehusen*[10] mit 6—8 Sek., *Rievel*[13] mit 5 Sek. bei hohen Titern und 1 Min. bei niederen. Vielfach wird eine gefärbte Testflüssigkeit verwendet, z. B. mit Zusatz von Krystallviolett *(Katona, Lubbehusen)*, während *Rievel*[12] die Untersuchung mit ungefärbter Abschwemmung als die zweckmäßigste bezeichnet. Mit der Vollblutuntersuchung können Blutwerte von 1:50 und höher nachgewiesen werden *(Wagener*[16]*)*.

Eine besondere Abart dieser Methode gibt *Stover*[15] an:

Er nimmt ein Blatt Filtrierpapier und ein durchsichtiges Papier, das kürzer und schmäler ist, heftet beide an den Ecken aneinander und bringt einen Tropfen Blut, dem er ein Mittel zur Gerinnungsverhinderung zugesetzt hat, und einen Tropfen Testflüssigkeit dazwischen. Um eine gute Durchmischung der Proben zu erzielen, bewegt er sie kräftig zwischen den Fingern hin und her. Handelt es sich um eine positive Reaktion, so lassen sich bald im durchscheinenden Licht in der Mitte des Tropfens verklumpte Bakterienhaufen erkennen, während die Flüssigkeit aufklärt. Bei negativem Ausfall der Agglutination dagegen bleibt der Tropfen gleichmäßig trüb.

4. Trockenblutagglutination.

Ihre Technik gibt *Wagener*[16] folgendermaßen an:

Ein Tropfen Blut wird auf einem 6 cm langen und 1 cm breiten Fließpapierstreifen aufgefangen, dessen Ende zur Kennzeichnung beschriftet werden kann. Dort trocknet es an und kann auf diese Weise leicht verschickt werden. Ein etwa tropfengroßes Stück des durchtränkten Papiers wird zerkleinert, in ein Reagensglas mit 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung gegeben, die man 30 Min. ein-

wirken läßt. 5 Tropfen dieses Extraktes werden auf einem Objektträger mit einem Tropfen dichtem Test verrührt, worauf die Probe nach 5—10 Min. *(Mießner*[11]*)* Flockung zeigt. Noch 10—12 Tage nach der Blutentnahme konnte *Wagener* auf diese Art und Weise positive Ergebnisse erhalten.

Eine vergleichende Wertbeurteilung der beschriebenen 4 Blutagglutinationsverfahren ist bei den verschiedenen Autoren verschieden. *Lubbehusen*[10] fand von 215 mit der Langsamagglutination untersuchten Hühnern 84 als positiv mit der Vollblutmethode, wenn sie im Stall, und 166, wenn sie im Laboratorium durchgeführt wurde. *Katona*[6] hatte 73 positiv reagierende Hühner bei der Vollblutuntersuchung, von denen nur 71 mit der Serumschnellagglutination und 57 mit der Serumlangsamagglutination übereinstimmten. *Bunyea*[3] erhielt zwischen Serumlangsam- und Frischblutmethode 94% Übereinstimmung, *Grieder*[5] 100%, und auch *Mießner*[11] und *Künnemann*[8] berichten von weitgehender Gleichheit der Ergebnisse, während die Serumschnellagglutination zu viele, die Trockenblutmethode zu wenig positive Tiere anzeige. Dagegen findet *Wynohradnik*[19] bei 19084 Blutproben einen Differenzbetrag von nur 2,69—4,25% zugunsten der Serumlangsam- gegenüber der Serumschnellmethode.

Agglutinine im Ei.

Bereits 1923 veröffentlichte *Beaudette*[1] ein Verfahren zum Nachweis spezifischer Agglutinine im Ei infizierter Hühner. Er entnimmt den mit 2,5% Phenol gereinigten Eiern $^1/_2$ ccm flüssiges Eiweiß und mischt es mit 1,5 ccm Kochsalz. Davon stellt er dann Verdünnungen bis 1:32 an bei je 1 ccm Testflüssigkeit, und läßt die Proben 16—25 Stunden im Brutschrank. Die stärkste Agglutination zeigte sich bei Verdünnungen von 1:8. Zwischen der Höhe des Blut- und Eiweißtiters ließ sich keine Beziehung feststellen.

Im Gegensatz dazu stehen die Versuche von *Frank*[4] und *Paille*[12], die wohl im Gelbei, nie aber im Weißei Agglutinine feststellen konnten, deren Titer entsprechend dem des Blutes schwankte. *Paille*[12] führte eine Schnellagglutination mit Eigelb durch, die auch für die Praxis brauchbar sein soll. Auf Grund seiner Ergebnisse glaubt er sogar die Blutuntersuchung durch die Dotteragglutination ersetzen zu können, so daß in diesem Falle künftig statt Blutproben nur mehr Eier zur Untersuchung eingesandt zu werden brauchten.

Postmortale Agglutinationsverfahren.

Da die Erfolge der Agglutinationsmethoden intra vitam gut und überzeugend sind, wurde versucht, sie auch post mortem anzuwenden, um die hier auftretenden Schwierigkeiten der Diagnosestellung zu überwinden.

Wynohradnik[18] beschreibt eine Methode zur Feststellung des Hühnertyphus, die *Runnels, Coon, Farley* und *Thorp* auch bei pullorumkranken Tieren anwendeten. Es handelt sich um eine Schnellagglutination. Ein Tropfen Perikardflüssigkeit und ein Tropfen Test werden auf einem Objektträger gemischt, worauf im positiven Fall innerhalb 5 Min. eine Ausflockung auftritt. Die Ergebnisse waren gut und das Verfahren erwies sich beim Vergleich mit anderen Krankheiten als streng spezifisch.

Litzke[9] machte Versuche zum Nachweis von Agglutininen im Herzextrakt pullorumkranker Hühner in folgender Weise:

Das Herz des Huhnes wird abgewogen, in einem Mörser verrieben und zu der erhaltenen breiartigen Masse der doppelte Gewichtsteil physiologischer Kochsalzlösung zugefügt und das Ganze gut verrührt. Dann wird es filtriert, 10 Min. zentrifugiert, einige Kubikzentimeter der Flüssigkeit werden mit einer Pipette abgesogen und nochmals 5 Min. zentrifugiert. Zu je 2 ccm des im Verhältnis 1:1, 1:2, 1:4 bis 1:32 verdünnten Extraktes wird 0,1 ccm Test zugegeben von der Dichte, daß

man nach Abfüllen in ein Reagensglas gewöhnliche Druckschrift noch eben lesen kann. Nach 24 Stunden Brutschrankaufenthalt wird das Ergebnis makroskopisch oder mit Hilfe des Agglutinoskopes abgelesen. Positive Ausfällungen wurden in den Verdünnungen von 1:2 bis 1:16 festgestellt.

Eigene Versuche.

Bei den Schwierigkeiten, die die postmortale Feststellung der Erkrankung mit B. pullorum bei erwachsenen Hühnern bietet, wäre ein sicher arbeitendes Agglutinationsverfahren unter Verwendung eines Organextraktes von sehr großem Vorteil. Das pathologisch-anatomische Bild bei der Sektion kann immer nur den Verdacht in dieser Richtung lenken und häufig nur zu einer Wahrscheinlichkeitsdiagnose führen. Wie wenig Fälle auch die bakteriologische Untersuchung erfaßt, zeigen die Kontrollversuche vieler Autoren. *Bunyea*[3] berichtet von 81,2% Übereinstimmung zwischen bakteriologischer und Blutuntersuchung, *Grieder*[5] von 69,49%, *McKenney*[7] von 75% bei dauernd positiven und 20% bei Hennen mit wechselnden Blutergebnissen. *Rievel*[13] konnte bei 7 kranken Tieren nur 4mal das B. pullorum isolieren. Es läßt also das Agglutinationsverfahren wesentlich mehr Krankheitsfälle erkennen und ist damit allen anderen Untersuchungsmethoden klar überlegen.

Darum sollten meine Versuche die Möglichkeit und praktische Anwendbarkeit einer Agglutination in der von *Litzke*[9] angegebenen Richtung prüfen, da der Beweis, den er für die Richtigkeit seiner Methode anführt, unzulänglich ist. Wenn bei einer Versuchsgruppe von 5 Hühnern mit typisch pathologisch-anatomischen Merkmalen für Kükenruhr nur 3 eine positive Agglutination mit Herzextrakt geben und von diesen 3 nur bei einem Tier B. pullorum nachgewiesen werden kann, wie es *Litzke* angibt, so ist darin kein zwingender Beweis für die Richtigkeit und vor allem für die Spezifität der Reaktion zu erblicken. Außerdem dürfte unter diesen Umständen eine Beweisgruppe von nur 5 Hühnern als zu gering betrachtet werden, um eine allgemein gültige Regel aufstellen zu können. Deshalb sollte zunächst einmal das Verfahren in dieser Art überprüft werden.

Zur Kontrolle wurde in den vorliegenden Versuchen neben der Blutuntersuchung bei lebenden Hühnern in jedem Fall die pathologisch-anatomische und die bakteriologische Untersuchung durchgeführt. Letztere geschah nach der im hiesigen Hygienischen Institut geübten Differenzierungsmethode:

Material aus der Leber und aus mehreren Follikeln wurde auf Endoagar-, Traubenzuckeragar- und Bromthymolagarplatten ausgestrichen, dazu eine Anreicherung in Tetrathionatbouillon gemacht, die nach 12 Stunden Brutschrankaufenthalt wieder auf die vorgenannten Platten aufgestrichen wurde. Die Differenzierung erfolgte dann mit Hilfe des kulturellen und des serologischen Verhaltens der aufgegangenen Keime, Ausstrichfärbung und Prüfung der Beweglichkeit.

Versuchsreihe 1.

In genauer Befolgung der von *Litzke* angegebenen und oben beschriebenen Methode wurden 20 Versuchshühner untersucht. Die Blutuntersuchung im Leben geschah mit der Serumlangsamagglutination, wie sie der Reichsgeflügelgesundheitsdienst vorschreibt. Als Test diente die Gebrauchstestverdünnung des hiesigen Geflügelgesundheitsdienstes sowohl für die Blut- wie auch für die Herzextraktagglutination. Ebenso wurde für beide ein Brutschrankaufenthalt von 24 Stunden gewählt. Die Ablesung erfolgte hier und in den späteren Versuchen immer nur mit unbewaffnetem Auge, und zwar nach der Punktmethode, wobei aber für eine positive Agglutination außerdem noch eine deutliche Flockenbildung beim Aufschütteln verlangt wurde.

Tabelle 1.

Huhn	Blut-agglutination	Herzextrakt-agglutination	Bakteriologischer Befund	Pathologisch-anatomischer Befund
1	+	+	—	Follikelentartung
2	+	+	—	negativ
3	+	+	—	Follikelentartung
4	+	+	—	Milzschwellung
5	+	+	—	Leber- und Milzschwellung
6	+	+	—	—
7	+	+	—	Leber- und Milzschwellung
8	+	+	—	Follikelentartung, Eileiterentzündung
9	+	+	—	Follikelentartung, Eileiterentzündung
10	?	—	—	—
11	—	—	—	—
12	+	—	—	—
13	—	+	—	Leukämie
14	+	+	—	—
15	—	—	—	—
16	—	+	—	—
17	—	—	—	—
18	—	—	—	—
19	—	+	—	—
20	—	+	—	Tuberkulose

Ergebnis.

Von 8 durch die Blutuntersuchung als negativ ermittelten Hühnern zeigten bei der Herzextraktagglutination 4 eine positive Reaktion, die durch den bakteriologischen oder pathologisch-anatomischen Befund nicht gestützt wird. Es kann sich also hier nur um eine Pseudoagglutination handeln.

Der Hauptmangel dieses Verfahrens liegt wohl in der Art der Extraktherstellung. Durch die Verreibung des Herzmuskels zu einer breiartigen Masse wird die gesamte Muskelsubstanz zerstört. Eiweißstoffe unspezifischer Art und Fetteilchen werden in die Flüssigkeit verrieben, die zu unkontrollierbaren Ausfällungen Anlaß geben können. Weiter

werden sehr viele rote Blutkörperchen aus den noch gefüllten Capillaren mechanisch zerstört, der Blutfarbstoff wird frei und gibt der Extraktflüssigkeit einen rötlichen Farbton, der das Ablesen der Agglutinationen, besonders in niederen Verdünnungen, sehr erschwert. Auch ist das Verfahren ziemlich zeitraubend, da die Filtration des Muskelbreies nur langsam vonstatten geht und dann noch 2mal zentrifugiert werden muß. Für die Ablesung wirkt sich die hohe Flüssigkeitssäule von 2,1 ccm Gesamtmenge ungünstig aus, besonders bei Verwendung eines Spiegels, da das Licht nicht genügend stark von oben her durchdringen kann, zumal ja die Flüssigkeit noch einen mehr oder minder rotbraunen Farbton hat. Diesen Schwierigkeiten wurde nun versucht durch eine andere Art der Extraktherstellung zu begegnen.

Eigenes Verfahren.

Am gespaltenen Herzen werden sämtliche Blutgerinnsel und das Coronarfett entfernt. Nunmehr wird das Herz auf eine Waage mit einem austarierten Glasschälchen gelegt und in der Weise gewogen, daß mit einer Pipette physiologische Kochsalzlösung in das Schälchen gegeben wird, bis die Waage wieder ausgeglichen ist. So geht das Abwiegen bei größerem Materialanfall schnell vonstatten und man hat die für den einzelnen Fall benötigte Menge Kochsalzlösung bereits abgemessen in der Glasschale. Im Gegensatz zu *Litzke*, der das Doppelte des Herzgewichtes an Kochsalzlösung zugab, wird hier nur die einfache Menge genommen zur Erhöhung des Titers. Für die Extraktion wird das Herz nur mit der Schere zerkleinert, so daß relativ wenig Muskelsubstanz zerstört wird. Natürlich kann hier der Übergang der im Gewebe vorhandenen Agglutinine in die Flüssigkeit nicht so schnell vor sich gehen wie bei einem völligen Verreiben der Muskulatur. Deshalb wurden die Proben zur besseren Extraktion über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Am anderen Tag wird die Flüssigkeit abgegossen, filtriert und 5 Min. zentrifugiert, worauf sie vollkommen klar und durchsichtig ist und nur bei bereits eingetretener Hämolyse eine stärkere Rotfärbung aufweist. Die nun folgende Agglutination wird genau wie bei der Serumlangsamagglutination durchgeführt: 1 ccm verdünnte Testflüssigkeit und fallende Mengen unverdünnter Herzextrakt werden in ein A-Röhrchen zusammen gegeben, gut durchgeschüttelt und in den Brutschrank gestellt. Ablesung erfolgt, wie oben angegeben.

Versuchsreihe 2.

Zur Überprüfung der eigenen Methode stehen zunächst 20 lebende Versuchshühner zur Verfügung. Bei der Tötung wird Blut zur Untersuchung durch die Serumlangsamagglutination gewonnen in Verdünnungen von 1:50 bis 1:2000. Der Herzextrakt wird wie angegeben gewonnen und in Verdünnungen von 1:8 bis 1:200 agglutiniert. Brut-

schrankaufenthalt: 12—18 Stunden. Test: Gebrauchsverdünnung des Geflügelgesundheitsdienstes.

Tabelle 2.

Huhn	Blut-agglutination	Herzextrakt-agglutination	Bakteriologischer Befund	Pathologisch-anatomischer Befund
1	250	25	—	—
2	100	50	—	—
3	1000	50	—	—
4	1000	50	—	—
5	1000	50	—	—
6	500	100	—	—
7	2000	100	B. pull.	Eierstockscyste
8	50	25	—	Leukämie
9	100	16	—	Follikelentartung
10	333	100	—	—
11	100	50	—	—
12	100	16	—	Follikelentartung
13	100	16	—	—
14	50?	—	—	—
15	—	—	—	—
16	—	—	—	—
17	—	—	—	Follikelentartung
18	—	—	—	—
19	—	—	—	Follikelentartung
20	—	—	—	—

Ergebnis.

Die in der Tabelle 2 unter Blut- und Herzextraktagglutination aufgeführten Zahlenwerte geben den Nenner des entsprechenden Verdünnungsverhältnisses an. Sämtliche Hühner, die durch die Blutagglutination als positiv gefunden wurden, zeigen entsprechend eine positive Herzmuskelextraktreaktion, die nichtkranken Hühner eine negative. Nur in einem Fall (Huhn 14) gab es bei fraglicher Blutagglutination einen negativen Befund des Herzextraktes, wie er allerdings auch kaum anders zu erwarten war. Die Höhe der Blutwerte schwankt von 1:50 bis 1:2000, die des Herzextraktes von 1:16 bis 1:100. Der positive serologische Befund wird nur in einem Fall durch die bakteriologische und in 4 Fällen durch den pathologisch-anatomischen Befund gestützt. Diese Tatsache erklärt sich wohl dadurch, daß die untersuchten Tiere zum großen Teil ein unentwickeltes Ovar besaßen (Frühjahr). Ein genaues Verhältnis zwischen der Titerhöhe des Blutes und des Herzextraktes läßt sich nicht feststellen, was sich leicht durch die Möglichkeit kleinerer Abweichungen bei der Herstellung des Extraktes und der Agglutinationen erklären läßt.

Versuchsreihe 3.

Um ungefähr die gleichen Bedingungen herzustellen, wie sie bei den zur Sektion eingesandten Hühnern vorliegen, wurden die Versuchstiere

nach der Blutentnahme durch Luftinjektion in die Flügelvene getötet, damit die Absetzung des Serums bei der Blutgerinnung im Körper stattfindet. Die getöteten Tiere blieben dann 1 Tag bei Außentemperatur (Hochsommer) liegen, um die eventuellen Einwirkungen der beginnenden Zersetzung zu erfahren. Als Test diente eine ganz frisch hergestellte, gutagglutinierende Bakterienabschwemmung. Der Brutschrankaufenthalt wurde bei diesem und den späteren Versuchen auf 5 Stunden herabgesetzt zur Vermeidung von Pseudoagglutinationen, entsprechend einem Vorschlag des Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institutes der Universität Gießen[14]. Außerdem wurde hier neben der Serumlangsam- auch die Serumschnellagglutination durchgeführt und ein entsprechendes Verfahren für den Herzmuskelextrakt: 1 Tropfen Extrakt und 1 Tropfen unverdünnter Test werden auf einem Objektträger zusammen gegeben und mit einem Glasstab gut durchgemischt.

Tabelle 3.

Huhn	Serum-		Herzextrakt-		Bakteriologischer Befund	Pathologisch-anatomischer Befund
	Langsam-agglutination	Schnell-agglutination	Langsam-agglutination	Schnell-agglutination		
1	—	—	—	—	—	Leukämie
2	—	—	—	—	—	„
3	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	Leukämie
7	—	—	—	—	—	Follikelentartung
8	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—	—
10	2000	+	100	+	B. pull.	Follikelentartung
11	1000	+	50	+	„	„
12	1000	+	100	+	—	Follikelentartung, Perikarditis
13	500	+	25	+	B. pull.	Follikelentartung
14	2000	+	100	+	—	„
15	100	+	16	+	B. pull.	„
16	333	+	16	+	—	„

Ergebnis.

Bei sämtlichen Hühnern reagierte der Herzextrakt entsprechend wie das Serum (7 positiv, 8 negativ), so daß es sich also um eine spezifische Agglutination handeln muß. Das Verhältnis von Titerhöhen und Herzextrakt ist - wie schon im vorigen Versuch erwähnt — auch hier bei den einzelnen Tieren kleineren Schwankungen unterworfen. Ein störender Einfluß durch das lange Aufbewahren der getöteten Tiere und ihre beginnende Zersetzung konnte nicht festgestellt werden.

Neben der Langsamagglutination erweist sich auch die Herzextrakt-Schnellagglutination als gut geeignet zur Diagnose der Kükenruhr post

mortem. Bei einem Titerwert des Blutes von über 500 tritt die Ausfällung beim Verrühren fast momentan ein, während sie bei niederem Blutwert erst nach etwa $^1/_2$—2 Min. erfolgt. Pseudoagglutinationen wurden dabei erst nach 2—3 Stunden Stehenlassen der Proben gesehen.

Gestützt wird der positive serologische Befund in allen Fällen durch den pathologisch-anatomischen und in 4 Fällen durch den bakteriologischen Befund.

Versuchsreihe 4.

Die hier verwendeten Tiere waren zum großen Teil von weither zur Sektion eingesandt und zeigten der warmen Jahreszeit entsprechend (Hochsommer) schon mehr oder weniger starke Fäulniserscheinungen.

Tabelle 4.

Huhn	Herzmuskelextrakt	Skeletmuskelextrakt	Bakteriologischer Befund	Pathologisch-anatomischer Befund
1	33	25	B. pull.	Follikeldegeneration, Lebernekrosen
2	100	33	„ „	„ Milzschwellung
3	100	33	„ „	„ Gicht
4	50	50	—	„ Lebernekrosen, Herzschwielen
5	100	100	B. pull.	„ Lebernekrosen
6	100	—	„ „	„ Lebernekrosen, Perikarditis
7	8?	—	„ „	„ Gicht, Milzschwellung
8	50	—	„ „	„ Lebernekrosen
9	100	16	„ „	„ Milzschwellung
10	50	16	„ „	„ Leber vergrößert
11	—	—	—	„ Eileiterentzündung
12	—	—	—	„ Eileiterentzündung
13	—	—	—	„ —
14	—	—	—	„ Eileiter-, Bauchfellentzündung
15	—	—	—	„ Leberberstung
16	—	—	—	„ Eileiterentzündung
17	—	—	—	„ Eileiterentzündung
18	—	—	—	„ Leberschwellung

Es sollte nun überprüft werden, ob sich auch hier das Herzextraktagglutinationsverfahren zur Feststellung der Pullorumseuche noch eignet. Daneben wurde überprüft, inwieweit gewöhnliche Skeletmuskulatur für Agglutinationszwecke brauchbar ist. Sie wurde immer an der gleichen Stelle, und zwar am Oberschenkel, entnommen und genau wie die Herzmuskulatur verarbeitet.

Testflüssigkeit wie vorher.

Ergebnis.

Von den untersuchten 18 Hühnern ergaben 9 eine positive und 1 Tier eine fragliche Agglutination. Nur im Fall 4 konnte dabei B. pullorum

nicht isoliert werden, während das pathologisch-anatomische Bild sehr typisch war (Follikelentartung, Lebernekrosen, Herzschwielen). Dem negativen serologischen Befund entsprach sonst in jedem Falle ein negativer bakteriologischer. Bei Huhn 6—18 wurde auch die Schnellagglutination durchgeführt, deren Ergebnisse mit denen der Langsamagglutination übereinstimmten. Auch im Fall 7 ergab sich mit der Schnellmethode innerhalb 1 Min. ein positives Ergebnis. Bei den zum Teil schon sehr stark in Fäulnis übergegangenen Hühnern konnte keine Beeinflussung des Agglutinationsergebnisses festgestellt werden, lediglich die Ablesung gestaltete sich in den niederen Verdünnungen schwieriger, da der Extrakt durch Blut- und Muskelfarbstoffe dunkler gefärbt war. Das entspricht auch den Erfahrungen *Webers*[17] bei der Blutagglutination. Der Vergleich zwischen Herz- und Skeletmuskelextraktagglutination ergibt eine im Durchschnitt geringere und teilweise fehlende Agglutinationskraft des letzteren, so daß er praktisch für diese Untersuchung nicht in Frage kommt.

Versuchsreihe 5.

Es handelt sich hier um Hühner aus dem Untersuchungsgut des Institutes, bei denen andere Erkrankungen als B. pullorum festgestellt

Tabelle 5.

Huhn	Herzextrakt-agglutination	Bakteriologischer Befund	Pathologisch-anatomischer Befund
1	—	—	Leukämie
2	—	—	„
3	—	—	Verblutung an der Kloake
4	—	—	Leukämie
5	—	—	Nierengicht, Typhlitis
6	—	—	—
7	—	—	Nierengicht
8	—	—	Leberberstung, Verblutung
9	—	—	Perikarditis, Leberstauung
10	—	T.B.	Tuberkulose
11	—	—	Lungenentzündung
12	—	T.B.	Tuberkulose, Follikelentartung
13	—	—	Gicht

wurden und die sonst als Kontrolle für die Spezifität der Agglutination dienen können.

Ergebnis.

Sämtliche Hühner hatten einen negativen serologischen (Herzextrakt) Befund, der gestützt wird durch das Ergebnis der bakteriologischen und der pathologisch-anatomischen Untersuchung. Es kann sich beim Auftreten positiver Agglutinationen also nur um eine spezifische Reaktion handeln.

Versuchsreihe 6.

Es lag nahe, diese Versuche auch auf Küken auszudehnen, bei denen sie bei der Häufigkeit des Auftretens der weißen Ruhr eine besondere Bedeutung erlangen könnten.

Versuchsanordnung: Bei dem geringen Gewicht des Kükenherzens (200—500 mg) war eine Extraktion mit gleicher Gewichtsmenge physiologischer Kochsalzlösung unmöglich, da die erzielte Menge Flüssigkeit für die Versuche nicht ausreichte. Infolgedessen wurde jedes Herz abgewogen, zerkleinert und 1 ccm Kochsalzlösung dazu gegeben. Diese Fehlerquelle gegenüber den Hühnerversuchen wurde entsprechend später ausgeglichen durch Vergleich zwischen Herzgewicht und Agglutinationsergebnis. Im übrigen war die Technik die gleiche wie in den vorhergehenden Versuchen. Besonderer Wert wurde auf eine frische gut agglutinierende Testflüssigkeit gelegt. Bei der bakteriologischen Untersuchung wurde nur aus der Leber gezüchtet.

Tabelle 6.

Küken	Herzmuskelextrakt	Skelettmuskelextrakt	Bakteriologischer Befund	Pathologisch-anatomischer Befund
1	—	—	—	Lungenknötchen
2	—	—	—	—
3	—	—	B. pull.	Lungenknötchen
4	—	—	—	—
5	—	—	B. pull.	Herzschwielen
6	—	—	„ „	Darmkatarrh
7	—	—	—	„
8	—	—	B. pull.	Lungenknötchen
9	—	—	„ „	„
10	100	16	—	Lungenknoten, Herzschwielen
11	—	—	—	—
12	—	—	B. pull.	Lungenknötchen
13	—	—	„ „	Lungenknötchen, Herzschwielen
14	—	—	—	—
15	—	—	B. pull.	—

Ergebnis.

Insgesamt wurden 50 Küken untersucht, von denen 24 als pullorumkrank durch die pathologisch-anatomische oder die bakteriologische Untersuchung ermittelt wurden. Alle Küken zeigten eine negative Herz- und Skeletmuskelextraktagglutination, so daß sich das Verfahren bei Küken demnach nicht anwenden läßt. Eine Ausnahme bildet nur das Küken 10, das bei der Sektion die typischen pathologisch-anatomischen Merkmale der chronischen Kükenruhr zeigte und bis 1:100 agglutinierte. Während das Alter der übrigen Tierchen etwa 14 Tage betrug, handelte es sich hier um ein etwa 6—8 Wochen altes Küken. Damit scheint auch eine Erklärung für das Versagen der Methode bei typisch erkrankten Jungküken gegeben zu sein. Ihr Organismus erlangt erst später die

Fähigkeit, in größerem Maße Gegenstoffe gegen die Bakterieninvasion zu bilden, worauf ja auch der akute Krankheitsverlauf und die riesigen Kükenverluste hindeuten.

Versuchsreihe 7.

Da bei dieser Methode der Herzextraktagglutination die Möglichkeit des Auftretens von Pseudoagglutinationen durch das Vorhandensein unspezifischer Faktoren in erhöhtem Maße gegeben zu sein scheint, war es notwendig, zu prüfen, welche Rolle dabei dem Alter des Testes zukommt. Es handelt sich im folgenden in jedem Fall um eine Testflüssigkeit, die nach den Vorschriften des Reichsgeflügelgesundheitsdienstes hergestellt wurde.

Tabelle 7.

Huhn	Herzmuskelextrakt	Skeletmuskelextrakt	Bakteriologischer Befund	Pathologisch-anatomischer Befund
1	—	?	—	Eileiterentzündung, Follikelentartung
2	—	?	B. coli	Eileiterentzündung
3	—	?	—	Gicht
4	—	?	B. coli	Eileiter- und Bauchfellentzündung
5	—	—	—	Eileiter- und Bauchfellentzündung
6	—	25	—	Tuberkulose
7	—	25	—	Eileiter- und Bauchfellentzündung
8	—	—	T.B.	Tuberkulose
9	—	—	—	Eileiter- und Bauchfellentzündung
10	—	—	—	Eileiter- und Bauchfellentzündung
11	—	—	—	Follikelentartung, Leberschwellung
12	—	—	—	Lungenentzündung
13	—	—	T.B.	Tuberkulose
14	—	—	—	Gicht, Follikelentartung
15	—	—	—	Follikelentartung, Lebernekrosen
16	8?	—	B. pull.	Follikelentartung, Gicht, Milzschwellung
17	100	—	„	Follikelentartung, Lebernekrosen, Perikarditis
18	—	100	—	Tuberkulose
19	—	100	—	Eileiter- und Bauchfellentzündung
20	—	100	—	Follikelentartung, Leberschwellung

In diesem Versuch wurde ein 4 Wochen alter Stammtest verwendet. Die davon hergestellten Verdünnungen waren bei

Huhn 1— 7 14 Tage alt,
Huhn 8—15 frisch,
Huhn 16—20 die gleiche Verdünnung, aber 10 Tage alt.

Das Untersuchungsmaterial war zur Sektion eingesandt.

Ergebnis.

Während der Herzextrakt entsprechend dem bakteriologischen Befund bei 18 Hühnern negativ und bei 2 positiv reagierte, zeigten sich die Alterserscheinungen des Testes bereits am Skeletmuskelextrakt, der also schon Anlaß zu Pseudoagglutinationen gibt, wenn der Herzextrakt

noch einwandfrei reagiert. Bei Huhn 1—7 gab es undeutliche, zweifelhafte Ausfällungen mit der 14 Tage alten Verdünnung eines 4 Wochen alten Stammtestes. Bei Verwendung einer frischen Verdünnung des gleichen Stammtestes wurden die Ergebnisse wieder negativ. (Huhn 8 bis 15), um bei 10—14tägigem Alter dieser Verdünnung wieder positiv zu werden (Huhn 16—20). Diese Testflüssigkeit wurde mit einem 1:3200 positiven Pullorumserum des Reichsgesundheitsamtes überprüft und agglutinierte nur mehr bis 1:500 deutlich. Es sinkt also die spezifische Agglutinationskraft und wächst die Neigung zu Scheinausfällungen mit steigendem Alter der Testflüssigkeit.

Versuchsreihe 8.

Die hier verwendete Stammtestflüssigkeit war 5 Monate, die Gebrauchsverdünnung 3 Wochen alt.

Tabelle 8.

Huhn	Herzmuskelextrakt	Bakteriologischer Befund	Pathologisch-anatomischer Befund
1	100	—	Tuberkulose
2	250	B. coli	Spulwürmer, Haarwürmer
3	200	„	Leukämie
4	200	—	Enteritis, Leberverfettung
5	100	T.B.	Tuberkulose
6	100	—	Leukämie
7	50	B. pull.	Follikelentartung, Lebernekrosen
8	500	—	Follikelentartung, Eileiterentzündung
9	100	—	Follikelentartung, Lebernekrosen
10	100	B. pull.	Follikelentartung, Perikarditis

Ergebnis.

Von den 10 untersuchten Hühnern zeigten 6 andere Krankheiten, 4 erweckten pathologisch-anatomisch den Verdacht auf Kükenruhr, der aber nur bei 2 durch die bakteriologische Untersuchung bestätigt wurde. Trotzdem gaben alle Tiere eine positive Reaktion mit Herzmuskelextrakt in Höhe von 1:50 bis 1:500, so daß es sich hier also nur um Scheinausfällungen handeln kann. Demnach gibt auch der Herzextrakt unspezifische Agglutinationen bei Verwendung eines zu alten Bakterientestes und sein Gebrauch würde zu schweren Irrtümern Anlaß geben.

Versuchsreihe 9.

Das Untersuchungsmaterial stammte von zur Sektion eingesandten Küken. Alter des Stammtestes wie vorher 5 Monate. Alter der Verdünnungen bei

Küken 1— 5: 3 Wochen,
Küken 6—10: frisch,
Küken 11—15: 10 Tage,
Küken 16—19: frisch,
Küken 19—22: 10 Tage.

Tabelle 9.

Küken	Herzmuskel-extrakt	Skeletmuskel-extrakt	Bakterio-logischer Befund	Pathologisch-anatomischer Befund
1	25		B. coli	Lungenknötchen
2	25		B. pull.	Blinddarmpfröpfe
3	50		—	—
4	100		—	—
5	100		—	—
6	—		B. pull.	—
7	—		—	—
8	—		B. pull.	—
9	—		—	Blinddarmpfröpfe, Darmkatarrh
10	—		B. pull.	Lungenknötchen
11	50	100	—	Darmkatarrh
12	33	50	—	Lungenknötchen
13	50	100	B. pull.	—
14	50	100	—	Blinddarmpfröpfe
15	50	100	—	—
16	—	—	B. pull.	Herz- und Lungenknötchen
17	—	—	„ „	—
18	—	—	—	Lungenknötchen
19	—	50	B. pull.	„
20	50	100	„ „	„
21	33	200	„ „	„
22	—	50	—	„

Ergebnis.

In der Versuchsreihe 5 ergab sich, daß Kükenherzextrakt bei Verwendung eines frischen, gut agglutinierenden Bakterientestes auch bei pullorumkranken Tieren keine Ausfällung gibt. So zeigt sich auch hier deutlich das Fehlergebnis, das durch eine zu alte Gebrauchsverdünnung eines 5 Monate alten Stammtestes bedingt wird. Während die frisch hergestellten Verdünnungen noch normal reagieren (Küken 6—10 und 16—19), geben sie bereits nach kurzer Zeit (etwa 10 Tage) wieder Anlaß zu Scheinagglutinationen (Küken 1—5, 11—15 und 20—22). Noch eine weitere Tatsache fällt dabei auf: die neben der Herzmuskulatur mitverwendete Skeletmuskulatur gibt durchschnittlich stärkere Ausfällungen und in höheren Verdünnungen als erstere. Es ist ein Zeichen für die größere Bereitschaft des Skeletmuskelextraktes zu unspezifischen Reaktionen, wie sie auch bereits im Versuch 6 gefunden wurde.

Versuchsreihe 10.

In dieser sollte untersucht werden, ob es sich bei den im vorigen beobachteten Erscheinungen bei Verwendung einer alten Bakterienabschwemmung nur um eine besonders leichte Ausfällbarkeit durch Hühnereiweiß handelt, oder ob das Eiweiß anderer Tierarten die gleichen Reaktionen gibt. Herz- und Skeletmuskelextrakt wurden in der gleichen Weise hergestellt und agglutiniert wie bei den Hühnerversuchen. Als

Test diente die bereits erwähnte 3 Wochen alte Verdünnung des 5 Monate alten Stammtestes und daneben die frische Verdünnung eines frischen Stammtestes.

Tabelle 10.

Tierart	Alte Testflüssigkeit		Frische Testflüssigkeit	
	Herzmuskel	Skeletmuskel	Herzmuskel	Skeletmuskel
Hund	100	33	—	—
Hund	33	500	—	—
Kaninchen	25	200	—	—
Kaninchen	200	100	—	—
Katze	250	200	—	—
Hund	50	250	—	—
Hund	100	200	—	—
Rinderserum (normal) . .	—	—	—	—

Ergebnis.

Sowohl Herzmuskel- wie Skeletmuskelextrakt der verschiedenen Tierarten gaben mit alter Testflüssigkeit Ausfällungen unspezifischer Art, ähnlich wie in den vorhergehenden Hühnerversuchen. Es handelt sich also hier keineswegs nur um eine besonders leichte Ausfällbarkeit des Hühnereiweißes, vielmehr scheint diese Eigenschaft besonders dem Muskeleiweiß eigen zu sein, da Normalrinderserum negativ reagierte und die Agglutinationskraft einer alten Bakterienabschwemmung einem positiven Serum gegenüber ja auch sinkt. Frische Testflüssigkeit reagierte bei diesen Versuchen in jedem Fall negativ, ein deutliches Zeichen für die Spezifität der Herzmuskelextraktagglutination.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Zusammenfassend läßt sich auf Grund der vorliegenden Ergebnisse also folgendes sagen:

Ein postmortales Agglutinationsverfahren zur Feststellung der Pullorumseuche der erwachsenen Hühner ist von großer praktischer Bedeutung. Das Verfahren der Herzextraktagglutination nach *Litzke* ist nach meinen Versuchen in der von ihm angegebenen Art für diesen Zweck nicht geeignet. Die dabei gesehenen Pseudoagglutinationen scheinen hauptsächlich durch die Art der Extraktherstellung bedingt zu sein, während sich die hohe Flüssigkeitssäule bei der Agglutination in den A-Röhrchen für die Ablesung ungünstig auswirkt. Durch die eigene oben beschriebene Technik gelang es, diese Schwierigkeiten zu umgehen. Die Voraussetzung für das Gelingen der Agglutinationen ist die Herstellung eines völlig klaren und reinen Extraktes. In den Versuchsreihen 2 und 3 zeigte sich eine einwandfreie Übereinstimmung zwischen der Serumlangsam- und der Herzextraktlangsamagglutination,

wobei das Verhältnis der Titerhöhen beider kleinen Schwankungen unterworfen ist, die sich durch Mängel in der Technik der Methode erklären lassen. Die serologische Untersuchung erfaßt dabei einen wesentlich höheren Prozentsatz erkrankter Tiere als die pathologisch-anatomische oder die bakteriologische. Neben der Langsamagglutination wurde auch eine Schnellmethode mit gutem Erfolg angewandt, deren Ergebnisse mit ersterer vollkommen übereinstimmten. Sie hat den Vorteil der Zeit- und Arbeitsersparnis und kann im Durchschnitt nach 1—2 Min. abgelesen werden, während unspezifische Ausfällungen erst nach einigen Stunden beobachtet werden konnten.

Die in einigen Versuchen mitverwendete Skeletmuskulatur ist nicht geeignet für Agglutinationszwecke, da sie in weniger hohen Verdünnungen als Herzextrakt und zum Teil überhaupt nicht agglutiniert und bei Verwendung einer nicht mehr ganz frischen Bakterienabschwemmung leichter Anlaß zu Scheinausfällungen gibt. Mit der Schnellagglutination wurde dabei in den meisten Fällen kein Ergebnis erzielt oder erst nach längerer Zeit.

Auch bei den zur Sektion eingesandten Hühnern ist das Verfahren der Herzmuskelextraktagglutination hervorragend zur Diagnose der Erkrankung mit B. pullorum geeignet. Weitgehende Fäulnis des Untersuchungsmaterials war ohne Einfluß auf die Höhe des Ergebnisses, erschwerte nur die Ablesung in niederen Verdünnungen durch die dunklere Färbung der Flüssigkeit. Es erscheint deshalb praktisch bei Anwendung dieser Methode sich nicht auf eine bestimmte Verdünnung festzulegen, sondern mehrere nebeneinander anzustellen, vielleicht 1:8, 1:16 und 1:25, womit sich dann alle Krankheitsfälle mit Sicherheit erkennen lassen. Diese Schwierigkeiten der Festsetzung eines bestimmten, als positiv anzusprechenden Titers, umgeht die Schnellagglutination. Daß es sich wirklich um spezifische Agglutinationen handelt, beweist insbesondere die Versuchsreihe 5: Hühner mit anderen Todesursachen als Kükenruhr, die alle dementsprechend negativ reagierten.

Von größter Wichtigkeit bei diesen Agglutinationen ist die Verwendung eines gut agglutinierenden, frischen Bakterientestes. Während mit dem Altern des Testes seine spezifische Agglutinationskraft sinkt, steigt die Neigung zu unspezifischen Ausfällungen gegenüber Muskeleiweiß aller Tierarten. Das zeigt am deutlichsten die Tatsache, daß Skeletmuskelextrakt eher und höher von solchen alten Testflüssigkeiten agglutiniert wird als Herzmuskelextrakt, während Normalseren überhaupt nicht reagieren. Es ist deshalb die Verwendung einer höchstens 4 Wochen alten Stammtestflüssigkeit zu empfehlen, von der man jedesmal vor dem Gebrauch eine frische Verdünnung herstellt. Das vermehrt zwar die Arbeit etwas, gibt aber andererseits die Gewähr für eine sichere, gut ablesbare Agglutination. Diese Beobachtungen stimmen auch mit den Erfahrungen *Bindrichs*[2] bei der Blutagglutination überein, wobei

24 Tage alte Testflüssigkeit einwandfreie Ergebnisse lieferte, 39 Tage alte aber bereits trübe und schleimige Agglutinationen gab.

Brutschrankaufenthalt von 5 Stunden und anschließend 18 Stunden Stehen bei Zimmertemperatur erwies sich als günstige Zeit für die Ablesung der Agglutinationen, während nach 5 Stunden allein das Ergebnis in den meisten Fällen noch zu undeutlich war.

Die Agglutinationsversuche wurden auch auf Küken ausgedehnt, allerdings ohne Erfolg. Hier gelingt erst bei älteren Tieren der serologische Nachweis, während sämtliche in dem für Kükenruhr typischen Alter erkrankten Tiere negativ reagieren. Es kann also der Organismus des Jungkükens Antistoffe in nachweisbaren Mengen noch nicht bilden.

Ergebnis.

1. Die Herzextraktagglutination ist hervorragend geeignet und praktisch anwendbar zur postmortalen Feststellung der Pullorumseuche der erwachsenen Hühner.

2. Es handelt sich um eine streng spezifische Reaktion, die der bakteriologischen Untersuchung überlegen ist.

3. Voraussetzung dafür ist die Herstellung eines klaren Extraktes und die Verwendung einer frischen, gut agglutinierenden Bakterienabschwemmung.

4. Bei Küken ist dieses Verfahren wegen des Fehlens von Agglutininen nicht anwendbar.

Literaturangabe.

[1] *Beaudette, F. R.:* J. of Immun. 8, 493 (1923). — [2] *Bindrich, H.:* Diss. Berlin 1929. — [3] *Bunyea, H.:* J. agricult. Res. **48**, 837 (1929). — [4] *Frank, Norma A.* and *B. H. Edgington:* Poultry Sci. **16**, 442 (1937). — [5] *Grieder, H.:* Schweiz. Arch. Tierheilk. **76**, 57 (1934). — [6] *Katona, J.:* Közl. összeh élet-és kort. **26**, 503 (1936). — [7] *McKenney, Frank D.:* J. amer. vet. med. Assoc. **82**, 65 (1933). — [8] *Künnemann, L.:* Diss. Hannover 1930. — [9] *Litzke, H.:* Diss. Berlin 1934. — [10] *Lubbehusen, R. E.* and *J. R. Beach:* J. amer. vet. med. Assoc. **86**, 620 (1935). — [11] *Mießner* u. *Berge:* Dtsch. tierärztl. Wschr. **1930**, 401. — [12] *Paille, R.:* Rev. vét. **87**, 58 (1935). — [13] *Rievel, H.:* Dtsch. tierärztl. Wschr. **1934 I**, 97. — [14] *Rundschreiben des Reichsbauernführers II D/6/500/38.* — [15] *Stover, D. E.:* J. amer. vet. med. Assoc. **90**, 661. — [16] *Wagener:* Tierärztl. Rdsch. **36**, 477. — [17] *Weber, W.:* Diss. München 1931. — [18] *Wynohradnik:* Arch. Vet. **1930**, 101. — [19] *Wynohradnik, V.* u. *C. Pelimon:* Arch. Vet. **1934**, 234.

Lebenslauf.

Ich, *Jakob Simon*, wurde am 9. Oktober 1913 in Nattenheim, Bezirk Trier geboren. Dort besuchte ich bis zu meinem 12. Lebensjahre die Volksschule und ging im Herbst 1926 zum Reform-Realgymnasium in Bitburg über. An dieser Anstalt legte ich am 10. März 1933 meine Reifeprüfung ab. Anschließend war ich im ersten freiwilligen Werkhalbjahr für Abiturienten und entschloß mich dann zum Studium der Tierheilkunde. Ich begann es mit dem Sommersemester 1934 an der Universität München, legte dort die tierärztliche Vorprüfung nach dem Wintersemester 1935/36 ab und konnte mein Staatsexamen am 6. Dezember 1938 ebenfalls in München abschließen. In den Semesterferien 1937 genügte ich meiner aktiven Wehrpflicht. Vorliegende Arbeit habe ich während meiner beiden letzten Studiensemester angefertigt.